

Die Beeinflussung der Bromsulphaleinprobe
durch künstliches Fieber

von

Einhard Immel

1959

Aus der Medizinischen Universitätsklinik
zu Mainz

(Direktor: Professor Dr. med. K. Voit)

Die Beeinflussung der Bromsulphaleinprobe
durch künstliches Fieber

Inaugural-Dissertation
zur
Erlangung der Doktorwürde
der
Hohen Medizinischen Fakultät
der
Johannes-Gutenberg-Universität
Mainz

vorgelegt von
Einhard Immel
Mainz 1958



Dekan: Professor Dr. med. H. Lossen
Referent: Professor Dr. med. H. Gros
Coreferent: Professor Dr. med. K. Voit

Datum des Diploms | 1. Juli 1959

INHALTSVERZEICHNIS

	Seite
A) Zweck und Ziel der Arbeit	1
B) Theoretischer Teil:	2
1) Grundsätzliches zur Bromsulphaleinprobe	2
2) Die Entwicklung der Bromsulphaleinprobe bis heute	2
3) Chemie des Bromsulphaleins	3
4) Verhalten des Bromsulphaleins im Körper:	4
a. Der Eliminationsmechanismus	4
b. Die Eliminationsgesetze	7
c. Verträglichkeit	8
5) Methoden der Bromsulphaleinprobe	8
6) Störungsfaktoren der Bromsulphaleinprobe	11
C) Eigene Untersuchungen:	14
a. Methodik	14
b. Ergebnisse	16
c. Diskussion der Ergebnisse	21
D) Zusammenfassung	23
E) Literaturverzeichnis	24



Digitized by the Internet Archive
in 2026

https://archive.org/details/IA41554419_0060

A) Zweck und Ziel der Arbeit

Die Bromsulphalein-Leberfunktionsprobe nimmt seit Jahren auch in Europa einen wichtigen Platz unter den Hilfsmitteln der Leberdiagnostik ein. Sie genießt den Ruf eines sehr empfindlichen, leberspezifischen Tests, der mit einfachen Mitteln durchgeführt werden kann. Tatsächlich fällt in vielen Fällen die Bromsulphaleinprobe pathologisch aus, bevor andere Untersuchungen, wie etwa die Serumlabilitätstests, auf einen vorliegenden Leberschaden hinweisen.

Gelegentlich wird jedoch ein pathologischer Ausfall beobachtet, ohne dass das klinische Bild und die Ergebnisse anderer Leberfunktionsproben für eine Leberschädigung sprechen. Manchmal liegt auch bei einer festgestellten Erkrankung die Farbstoffretention höher als auf Grund des Ausfalls anderer Funktionsproben erwartet wird (HAMRICK und MYERS). Diese Feststellung konnte meistens nach parenteraler Verabreichung verschiedener Medikamente, insbesondere nach intravenöser Injektion, getroffen werden. Daher lag der Gedanke nahe, dass eine medikamentöse Beeinflussung der Bromsulphaleinprobe möglich sei. Dieser Verdacht konnte bisher nur im Tierexperiment bestätigt werden. Es musste daher mit der Möglichkeit gerechnet werden, dass bei diesen Injektionen noch andere Substanzen in den Körper gelangen, die die Verfälschung der Werte bewirken. Hier kommen kleinste Mengen bakteriellen Pyrogens in Frage.

In der Tat fanden amerikanische Autoren, dass subfebrile Dosen eines gereinigten Polysaccharids aus *Bac. pyocyaneus* die Bromsulphaleinausscheidung beim lebergesunden Menschen um durchschnittlich 33% herabsetzen.

Der Zweck der vorliegenden Arbeit soll sein festzustellen, inwieweit sich diese Beobachtung bestätigen lässt, da bei den genannten Versuchen keine vor-
ausgehenden Kontrolluntersuchungen über die Höhe der Bromsulphaleinausscheidung ohne Pyrogenzufuhr durchgeführt wurden. Darüber hinaus soll geklärt werden, in welcher Weise steigende subfebrile und fiebererzeugende Pyrogendosen, letztere besonders vor Beginn des Temperaturanstiegs, beim lebergesunden und leberkranken Menschen auf die Bromsulphaleinprobe einwirken und ob sich auf diese Weise eine Erklärung für die gelegentlich auffallenden Unterschiede der Ergebnisse dieser Probe gegenüber dem Ausfall der anderen Leberfunktionsproben geben lässt.

B) Theoretischer Teil

1) Grundsätzliches zur Bromsulphaleinprobe

Nach allgemeiner Ansicht verfügen wir zur Zeit mit der Bromsulphaleinprobe über eine der empfindlichsten, zuverlässigsten und spezifischsten Untersuchungsmethoden zur Prüfung der Leberfunktion, bei gleichzeitig einfacher Versuchstechnik. Ihr Wesen besteht darin, dass ein Farbstoff in die Blutbahn eingespritzt wird, der von der gesunden Leber vollständig aus dem Kreislauf eliminiert wird. Er erscheint chemisch unverändert in der Gallenflüssigkeit. Bei einer Leberparenchymerkrankung wird ein mehr oder minder grosser Prozentsatz des Farbstoffes in Serum retiniert, wo er nach Zusatz von Natronlauge durch die entstehende blauviolette Farbe kolorimetrisch leicht nachzuweisen ist.

Der Retentionswert liegt nach der meist angewendeten 45-Minuten Kontrolle beim Lebergesunden nicht höher als 5-6%. Ob die geringe Schwankungsbreite durch methodische Unterschiede und daraus resultierende Streuwerte zu Stande kommt oder ob es sich um physiologische Abweichungen handelt, konnte noch nicht eindeutig geklärt werden. Durch neuere Untersuchungen (RIEGER) wurde allerdings festgestellt, dass dieser Grenzwert wegen der grossen mathematischen Streuung für die Beurteilung, ob ein Leberschaden vorliegt oder nicht, unverwertbar ist. Ein Wert von mehr als 6% Retention ist jedoch mit Sicherheit als ein Zeichen für den Beginn einer Funktionsstörung des Leberparenchyms anzusehen.

Bei lokal begrenzten, herdförmigen Leberschäden fällt die Bromsulphaleinprobe erst dann positiv aus, wenn mindestens 12% des Parenchyms betroffen sind (ROSENTHAL). Aus der Höhe des pathologischen Retentionswertes lassen sich im allgemeinen brauchbare Schlüsse auf die Schwere der Lebererkrankung, beziehungsweise auf den Umfang des geschädigten oder ausgefallenen Parenchyms ziehen, da man weiss, dass eine Verminderung des funktionstüchtigen Lebergewebes sich in einen bestimmten Verhältnis auf seine Funktionsfähigkeit auswirkt, die sich durch die Bromsulphaleinprobe bestimmen lässt. Eine Retention von 20-40% deutet auf eine mässige, von 50% und mehr auf eine hochgradige Leberparenchymschädigung hin. Die Bromsulphaleinprobe lässt also keine Schlüsse auf die Ursache, Art und Prognose des Schadens zu, sondern lediglich auf dessen Ausmass.

Ausser der allgemein üblichen Bestimmung des Retentionsindex werden Methoden angewandt, bei denen eine feststehende, im Verlauf der Elimination gleichbleibende indirekte Grösse gemessen und in verschiedener Weise ausgedrückt wird. Auf diese Methoden soll weiter unten eingegangen werden.

2) Die Entwicklung der Bromsulphaleinprobe bis heute

Die grundlegenden Untersuchungen, die zur Bromsulphaleinprobe in ihrer heutigen Form führten, gehen zurück auf das Jahr 1909. Damals beobachteten ABEL und ROWNTREE, dass subcutan gegebenes Phenoltetrachlorphtalein, der Vorläufer des Bromsulphaleins, fast ausschliesslich durch die Galle ausgeschieden wird. Diese Feststellung veranlasste sie zur Ausarbeitung einer Leberfunktionsprobe

be mit diesem Farbstoff. Anfänglich erfolgte die Einverleibung noch subcutan, später jedoch intravenös, und zwar in einer Menge von 400 mg. Beim Lebergesunden liessen sich 30-52% des Farbstoffes im Blut nachweisen, bei Leberkranken lag der Wert je nach Art und Schwere der Krankheit höher. Durch Bestimmung des Farbstoffes im Gallensaft mittels der Duodenalsonde erzielte McNEIL eine methodische Verbesserung der Probe. ROSENTHAL nahm 1922 eine weitere Änderung vor und zwar in der Weise, dass er durch Blutspiegelbestimmungen die Farbstoffretention in der Blutbahn feststellte. Er fand im Tierversuch, dass eine Parallelität zwischen Leberfunktionsstörung und Grad der Farbstoffretention besteht: die normale Leber entfernt innerhalb 15 Minuten den grössten Teil und nach einer Stunde praktisch allen Farbstoff aus dem Blut. Bei geschädigter Leber ist die Ausscheidung erheblich hinausgezögert. 1925 gingen ROSENTHAL und WHITE vom Phenoltetrachlorphthalein auf das Na-Salz der Phenoltetrabromphthaleinsulfonsäure über. Diese Verbindung wurde anfänglich abgekürzt Bromsulphthalein genannt. Auch die Bezeichnungen Bromsulphthalein oder Sulfobromphthalein waren im Gebrauch. Seit 1928 wird nach BULLMER der Farbstoff allgemein Bromsulphalein genannt.

ROSENTHAL und WHITE hatten bei Versuchen mit verschiedenen Phthaleinverbindungen gefunden, dass Bromsulphalein gegenüber Leberstörungen empfindlicher ist als die Chlorverbindung und keine Unverträglichkeitserscheinungen hervorruft. Ausserdem erreicht es eine höhere Konzentration im Blut und wird schneller in die Galle ausgeschieden. Eine Stunde nach i.v. Injektion von 2 mg Bromsulphalein pro kg Körpergewicht erscheinen 60-90% in der Gallenflüssigkeit. Derartig vorbereitete Galle wirkt stark baktericid auf *Bac. typhosus* und *Staph. albus*.

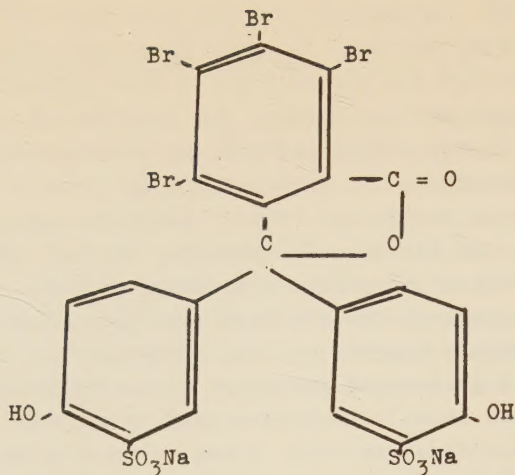
1929 ging O'LEARY von der 2 mg Dosis/kg Körpergewicht ab und führte die wegen der höheren Blutkonzentration günstigere Dosis von 5 mg Bromsulphalein/kg Körpergewicht ein, die auch heute noch allgemein üblich ist.

Der im Serum retinierte Farbstoff wurde im Anfang nach einem Vorschlag von ROSENTHAL mit Hilfe von Standardlösungen einer feststehenden 100%-Lösung durch visuellen Vergleich bestimmt. Einen entscheidenden Fortschritt erzielte GAEBLER im Jahre 1945 durch photoelektrisch-kolorimetrischen Nachweis des Bromsulphaleins im Plasma, womit er erheblich genauere Werte bestimmen konnte. Die photoelektrische Auswertung ist dreimal genauer als die ursprüngliche Methode. Die Fehlerbreite ist kleiner als 0,1 mg, das heisst weniger als 1% Retention.

1951 wurde von französischer Seite vorgeschlagen, die Testdosis auf 150 mg/Quadratmeter Körperoberfläche festzulegen, da bei vergleichenden Studien festgestellt wurde, dass bei adipösen Patienten zu hohe Retentionswerte auftraten. Dieser Vorschlag konnte sich nicht durchsetzen, ebenso wenig wie die verschiedentlich angewendete Dosis von 10 mg/kg Körpergewicht.

3) Chemie des Bromsulphaleins

Das Bromsulphalein ist eine organische Verbindung aus der Gruppe der Phthaleide und zwar das Phenoltetrabromdinatriumsulfonat mit folgender Strukturformel:



Das Molekulargewicht beträgt 838,0 und der pH-Wert liegt zwischen 4,4 und 5,5.

Die Verbindung ist in Wasser leicht löslich, in neutralem oder saurem Milieu farblos, bei alkalischen pH blaviolett und lässt sich daher leicht nachweisen. Für die Lichtabsorption der alkalisch gemachten Bromsulphaleinlösung gilt das Beer-Lambert'sche Gesetz.

Das Absorptionsmaximum im sichtbaren Spektralbereich liegt bei 597 mμ. Aus den durch spektralphotometrische Messungen ermittelten Eichkurven für das Absorptionsmaximum und die Wellenlängen 530, 570, 610 und 597 mμ geht hervor, dass eine Messung zwischen 570 mμ (Filter S 57) und 610 mμ für die Bestimmung der Bromsulphaleinkonzentration auf photometrischem Wege mit Spektralfiltern geeignet ist. Die meisten Autoren benutzen zu ihren Untersuchungen das genannte Filter S 57.

4) Verhalten der Bromsulphaleins im Körper

a) Der Eliminationsmechanismus

Der Eliminationsmechanismus des Bromsulphaleins ist trotz zahlreicher Untersuchungen in- und ausländischer Autoren noch nicht restlos aufgeklärt. Obschon einzelne Etappen dieses Vorganges bekannt sind, liegen über andere sich widersprechende Angaben vor. Im Folgenden soll versucht werden, die zur Zeit bekannten Untersuchungen zusammenzustellen und auf Grund dieser Tatsachen den Exkretionsmechanismus des Bromsulphaleins zu erklären.

Bei dem Bromsulphalein handelt es sich um einen gallengängigen Farbstoff, das heisst, es wird nach Einverleibung in den Kreislauf über die Gallenwege ausgeschieden. Die Ausscheidung über die Nieren ist nach Angaben amerikanischer Untersucher beim Lebergesunden 1% oder weniger. Zur Frage, wie es kommt, dass einzelne Farbstoffe fast ausschliesslich durch die Leber, andere aber ganz überwiegend durch die Nieren ausgeschieden werden, haben BRUGSCH und HORSTERS Stellung genommen. Sie konnten an Tierversuchen zeigen, dass saure Farbstoff-

fe quantitativ hauptsächlich durch die Galle ausgeschieden werden (Syncholie). Ausserdem fanden sie bei Oxyphthaleinen eine Begünstigung der Syncholie durch Halogenisierung.

Die Bromsulphaleinausscheidung geht nicht nur grössenordnungsmässig der Harnstoffsynthese parallel, sondern auch der Bildung und Exkretion von körpereigenem Bilirubin. Injiziert man gleichzeitig Bilirubin und Bromsulphalein, so erscheint der Farbstoff in der gleichen Menge als wenn er allein gegeben worden wäre. Dagegen ist der Bilirubinwert niedriger als bei alleiniger Bilirubininjektion. Zu dem gleichen Ergebnis kam man bei der gleichzeitigen Injektion von Bromsulphalein und Bengalrot. Da die Anwesenheit einer auszuscheidenden Substanz einen Einfluss auf die Ausscheidung einer anderen, ebensolchen Substanz aus der Blutbahn haben kann, hat man auf einen gemeinsamen Mechanismus für die Elimination der gallenpflichtigen Farbstoffe geschlossen. Das Bromsulphalein hat anscheinend die grösste Affinität zu diesem Mechanismus.

Bei der Exkretion dieses Stoffes aus der Blutbahn kommt den Serumalbuminen eine grosse Bedeutung zu. Sie binden ihn und transportieren ihn zur Leber. Aus elektrophoretischen Untersuchungen von BENNHOLD und Mitarbeitern geht hervor, dass die lebergängigen Farbstoffe wie z.B. das Bromsulphalein nahezu quantitativ an die Serum-Albuminfraktion gebunden werden, wodurch sie sich von den nierengängigen unterscheiden, die in viel geringerem Masse und nur sehr locker an Albumin gebunden werden. In neuester Zeit erbrachten papier-elektrophoretische Versuche mit S_{35} -markiertem Bromsulphalein wohl den sichersten Beweis für die Richtigkeit der genannten Untersuchungen. Die Bedeutung der Albumine erschöpft sich jedoch nicht in der Vehikelfunktion. Sie sind vielmehr auch an der Ausscheidung beteiligt, die eine aktive Leberleistung ist. 1929 fand JANCsó, dass die Kupffer'schen Sternzellen mittels einer "eigentümlichen, aktiven Zellfunktion" nur in Gegenwart von Plasmaeiweiss kolloidale Stoffe speichern. BENNHOLD und SEYBOLD zeigten in Versuchen mit Leber von Fröschen und Mäusen, dass quantitativ an das Plasmaalbumin gebundenes Trypanrot wahrscheinlich nur zusammen mit seinem Träger die Zellgrenzen der Kupffer'schen Sternzellen passiert. Es ist also anzunehmen, dass das Plasmaalbumin nur dann in die Sternzellen gelangen kann, wenn seine Oberfläche mit bestimmten zu transportierenden Substanzen beladen ist.

Einzelne Autoren schreiben dem reticuloendothelialen System, besonders dem RES der Leber, die Hauptlast der Ausscheidungsarbeit zu. In diesem Sinne sprechen Tierversuche von SCHELLONG, bei denen Tuscheblockade des RES die Farbstoffextraktion aus dem Serum erheblich hinauszögerte. Er geht sogar so weit, die Frage zu stellen, ob die Bromsulphaleinprobe nicht eher einen Test für das RES als für das Leberparenchym bedeute.

Während deutsche und andere europäische Autoren angeben, daß die Blockade des Leber-RES die Bromsulphaleinausscheidung beeinträchtigt, machten amerikanische Forscher die Beobachtung, daß die Blockierung der Kupffer'schen Sternzellen mit kolloida-

lem Quarz keinen nachteiligen Effekt auf die Bromsulphalein-Clearance hatte (ROSENTHAL und LILLIE). Allerdings muss der Effekt der Tuschinjektion auf die Bromsulphaleinausscheidung mit Vorsicht interpretiert werden. Tusche-
teilchen werden von den Kupffer'schen Sternzellen aufgenommen oder können, wenn sie gross genug sind, die Lebersinusoiden verstopfen. In beiden Fällen können die beladenen Kupffer'schen Zellen oder die Anhäufung freier Partikel die Verbindung vom strömenden Blut zu den polygonalen Zellen unterbrechen. Ausserdem ist gezeigt worden, dass Tusche abgesehen von der rein mechanischen Wirkung mit grosser Wahrscheinlichkeit ein hepato-toxisches Prinzip enthält. Darüber hinaus gibt MENDELOFF auf Grund fluoreszenzmikroskopischer Untersuchungen an, dass die hervorragende Bedeutung des RES für Ausscheidung von Farbstoffen zur Leberfunktionsprobe keineswegs als sicher angesehen werden kann. Die Wirkung von Tuscheinjektionen auf die Bromsulphalein-Exkretion beweist also nicht, dass der Farbstoff prinzipiell über das RES ausgeschieden wird. Die Frage, ob das Leber-RES oder das Leberparenchym für die Ausscheidung des Farbstoffes wichtiger sei, kann dahingehend beantwortet werden, dass den polygonalen Zellen die grössere Bedeutung zukommt. Dies haben auch Untersuchungen gezeigt, bei denen in den Leberparenchymzellen Bromsulphalein nachgewiesen werden konnte. Der Farbstoff wird also möglicherweise vom Leber-RES an die polygonalen Leberzellen weitergegeben, von wo er in die Gallenflüssigkeit sezerniert wird. Vorher besteht jedoch die Möglichkeit der Speicherung, wie WIRTS und CANTAROW zeigen konnten. Die Ausscheidung des Bromsulphalein in die Galle hinkt der Extraktion aus dem Blute nach und wird durch Speicherung in der Leber erklärt. Andere Autoren (BRAUER und PESOTTI) beobachteten ebenfalls, dass das Bromsulphalein nicht in gleicher Masse in der Galle auftrat, wie es aus der Blutbahn verschwand. PESOTTI und KREBS stellten fest, dass zwischen 48 und 75% des retinierten Farbstoffes in der Leber gespeichert wurden. Es ist wahrscheinlich, dass Bromsulphalein mit Proteinfractionen der Leber "Speicherkomplexe" bildet. Soweit es sich nach den Ergebnissen der verschiedenen Untersuchungen beurteilen lässt, läuft die Bromsulphaleinelimination aus der Blutbahn folgendermassen ab:

Der Farbstoff wird zunächst an das Plasmaalbumin gebunden. Dann fängt möglicherweise das RES, insbesondere dasjenige der Leber, das gebundene Bromsulphalein ab und gibt es an die polygonalen Leberzellen weiter. Von hier aus wird es in die Galle sezerniert. Die Aufnahmephase in die Kupffer'schen Sternzellen läuft zeitlich sehr schnell ab, was sich im Konzentrationsabfall des Farbstoffes im Serum während der ersten 15 Minuten äussert. Die Übergabe an die polygonalen Zellen läuft bedeutend langsamer ab.

Es müssen noch einige Worte zur extrahepatischen Bromsulphaleinausscheidung gesagt werden. Natürlich wird auch die extrahepatische RES einen, wenn auch nur geringfügigen Teil des Farbstoffes abfangen, den es wahrscheinlich bei geringer Bromsulphaleinkonzentration wieder in die Blutbahn abgibt. Die Bedeutung der Milz wird in diesem Zusammenhang noch verschieden beurteilt. Manche Autoren fanden nach Splenektomie eine Verminderung der Bromsulphaleinausscheidung, während andere keine Verzögerung des Farbstoffschwunds beobachteten. Diese Ausscheidungsstörungen können jedoch nur so minimal sein, dass sie während der raschen Eliminationsphase nicht in Erscheinung treten können. Sie zeigen sich erst in dem Augenblick, in dem der Eliminationsvorgang nur noch

langsam vor sich geht in Form eines unregelmässigen Kurvenverlaufes. Bei Versuchen mit eviscerierten und hepatektomierten Tieren ergab sich, dass 25-30% des Farbstoffes aus dem Serum verschwinden, also auch das periphere Gewebe an der Elimination beteiligt ist. Unter den üblichen klinischen Bedingungen kann nach Ansicht der meisten Autoren jedoch der extrahepatische Exkretionsmechanismus vernachlässigt werden.

Schliesslich ist die Bromsulphaleinausscheidung noch von der Leberdurchblutung abhängig. Bei einem gesunden Menschen durchströmen rund 700 ml Plasma pro Minute die Leber. Diese Durchblutungsgrösse weicht sowohl bei kardialer als auch bei cirrhotischer Stauung beträchtlich von dem Normalwert ab und beeinflusst den Bromsulphaleintest im Sinne einer Retentionserhöhung.

b) Die Eliminationsgesetze

Physiologisch gesehen handelt es sich bei der Elimination des Bromsulphaleins um einen Regulationsvorgang mit dem Ziel, den durch die Anwesenheit des injizierten Farbstoffes gestörten Gleichgewichtszustand des Organismus wieder herzustellen. Das Verschwinden des Bromsulphaleins aus dem Plasma hängt ab von:

- 1) dem Extraktionsvermögen der Leberparenchymzellen
- 2) dem der Leber pro Zeiteinheit angebotenen Plasmavolumen.

Der Verlauf des Blutspiegels zeigt sich im linearen Koordinatensystem als parabolische Kurve. Spätestens bis zum Ende der 4. Minute ist die maximale Plasmakonzentration erreicht und fällt in den folgenden Minuten rasch ab. Bei gesunden Personen beträgt die Farbstoffkonzentration im Blut bei 15 Minuten 30%, bei 30 Minuten 10% und bei 45 Minuten höchstens 6%. Der Eliminationsprozess ist in jedem Augenblick durch eine andere Geschwindigkeit gekennzeichnet. Sie ist zu Beginn des Vorganges am grössten und nähert sich im weiteren Verlaufe dem Wert 0. Der Zeitpunkt der maximalen Farbstoffkonzentration steht in keinem direkten Zusammenhang zur Funktion der Leber.

Trägt man den Konzentrationsverlauf des Blutspiegels in ein einseitig logarithmiertes Koordinatensystem ein, so ergibt sich ein geradliniger Kurvenverlauf. In den meisten Fällen bleibt jedoch der Verlauf der Semilogarithmischen Kurve nicht konstant eine Gerade, sondern ist am Anfang und Ende gestört. Der Anfang ist durch einen unregelmässigen Ablauf gekennzeichnet, der durch die Mischung des Farbstoffes mit dem umlaufenden Plasmavolumen hervorgerufen wird. Nach mehrfachem Ablauf der Kreislaufzeit stellt sich bis zum Ende der 3. Minute post injektionem der exponentielle Eliminationsverlauf ein. Wenn auch bereits mit Beginn der Injektion der Ausscheidungsmechanismus des Körpers einsetzt, so ist doch der Invasionsvorgang erst mit dem Ende der 3. Minute abgeschlossen. Unter Invasion versteht man den Resorptions- und Verteilungsvorgang des Farbstoffes. Während der ersten 3 Minuten wirken also Invasions- und Eliminationsvorgänge gegeneinander, wodurch der gesetzmässige Kurvenverlauf während dieser Zeit gestört wird.

Die am Ende der Kurve erscheinenden Veränderungen im Blutspiegelverlauf kommen dadurch zu Stande, dass nach der 20. Minute nur noch etwa 8-10% der Bromsulphaleinmenge im Blut kreisen. Die Ausscheidung geht nach diesem Zeit-

punkt äusserst langsam vor sich, so dass geringe Störungen, die in der raschen Eliminationsphase unmessbar klein sind, hier in Erscheinung treten. Man kann annehmen, dass das extrahepatische RES hier eine Rolle spielt. Es stösst während dieser Phase das vorher absorbierte Bromsulphalein wieder ab, wodurch der unregelmässige Kurvenverlauf zu Stande kommt.

c) Verträglichkeit

Die Verträglichkeit ist im allgemeinen gut, auch nach wiederholten Injektionen. Selten werden allergische Reaktionen wie Schüttelfrost, Fieber, Brechreiz und Schockzustände berichtet. Todesfälle, wie von BJORNEBOE beschrieben, sind sicher extrem selten und nur bei Patienten mit sehr schweren Gefässerkrankungen im Bereich der Möglichkeit. Es wird daher von verschiedener Seite empfohlen, vor Wiederholung der Probe den Intracutantest anzuwenden. Vereinzelt treten leichte Venenspasmen und harmlose lokale Trombophlebitiden auf. CAROLI schlägt deshalb zur Vermeidung dieser Erscheinungen vor, die Ampullen mit dem Farbstoff vor der Benutzung auf Körpertemperatur zu erwärmen und die Injektion langsam vorzunehmen.

Während der Menses sollte keine Bromsulphaleinprobe vorgenommen werden, da beobachtet wurde, dass die Blutung danach sistierte und nach 24 Stunden verstärkt wieder in Gang kam. Ein ungünstiger Einfluss des Farbstoffes auf die Lebererkrankung konnte bisher nicht festgestellt werden.

5) Methoden der Bromsulphaleinprobe

Um die Methodik des Tests zu vereinfachen und zu verbessern, sind eine Reihe von Modifikationen angegeben worden, die sich alle in zwei grundsätzliche voneinander zu unterscheidende Gruppen einordnen lassen:

- 1) die direkte Bestimmung des Retentionsindex nach einer bestimmten Zeitspanne;
- 2) die Ermittlung einer feststehenden, im Verlauf der Elimination gleichbleibenden Grösse, die in verschiedener Weise ausgedrückt werden kann. Die einzelnen Werte können ineinander umgerechnet werden.

Die Dosierung des Farbstoffes, die Entnahme und Weiterbehandlung des Blutes ist in den beiden Gruppen gleich. Dies geht in der Regel folgendermassen vor sich:

Vom nüchternen, liegenden Patienten werden 5-8 ccm Blut aus der Armvene entnommen. Anschliessend wird durch dieselbe Kanüle 5 mg Bromsulphalein/kg Körpergewicht injiziert. Die Injektion erfolgt allgemein schnell, d.h. innerhalb 15-30 Sekunden. Der Farbstoff ist in Ampullen zu 10 ccm im Handel, z.B. als Bromthalein der Firma Merck. 0,1 ccm der Lösung enthält 5 mg Bromsulphalein.

Den verschiedenen Methoden entsprechend werden 10, 30, 45 oder 60 Minuten nach beendeter Injektion am anderen Arm weitere Blutproben entnommen. Bei der Bestimmung der Clearance sind die Abstände kleiner, in der Regel 5 Minuten.

Diese Proben lässt man ohne Schütteln spontan gerinnen, zentrifugiert dann und pipettiert eine bestimmte Menge vom überstehenden Serum ab. Zu den je-

weiligen Seren gibt man eine gleiche Menge physiologischer Kochsalzlösung hinzu und versetzt sie mit Natronlauge bzw. 1%iger Salzsäure. Die angesäuerte Lösung dient als Kompensationsflüssigkeit. Durch die Natronlauge kommt die blaviolette Farbe des Bromsulphaleins zum Vorschein. Danach wird innerhalb 15 Minuten photometriert.

1. Die Bestimmung des Retentionsindex.

a) Die ursprüngliche Methode zur Bestimmung des Retentionsindex war die Komparatormethode, das heisst der visuelle Vergleich des Kontrollserums mit einer Vergleichsreihe von Bromsulphaleinlösungen, ausgehend von einem 100% Wert, in zunehmender Verdünnung.

Diese Methode wurde neuerdings von WACHSMUTH wieder aufgegriffen und weiter ausgearbeitet. Es wird die normale Farbstoffdosis gegeben, das Kontrollblut nach 60 Minuten entnommen und das Serum gegen die Verdünnungsreihe ausgewertet. Als 100% Wert gilt 0,2 ccm Bromsulphalein auf 100 ccm "alkalisches" Wasser. Es soll möglich sein, den Retentionswert bis auf 1% genau zu bestimmen.

Nach Ansicht der meisten Autoren ist diese Methode den photometrischen Messungen jedoch sehr unterlegen. Sie gestattet lediglich mit einfachsten Mitteln eine Übersicht, ob ein Leberschaden vorliegt. Sie ist deshalb weniger für den Kliniksgebrauch geeignet.

b) Die photometrischen Bestimmungen des Retentionsindex sind die heute allgemein üblichen. Einzelne Autoren wählen den Zeitpunkt für die Blutentnahmen nach der Injektion des Farbstoffes verschieden. Die maximale Konzentration im Blut wird nach den einzelnen Angaben 1, 2 oder 3 Minuten post injectionem erreicht. Nach RIEGER lassen sich unnötige Fehlerquellen durch Bestimmung des wirklichen Maximalwertes, eventuelle, des 1-Minutenwertes vermeiden. Es wird also eine Blutprobe zur Zeit der höchsten Farbstoffkonzentration entnommen und eine weitere nach 45 Minuten. Die Auswertung einer 60-Minutenprobe zeigt keine Vorteile. BRAUN und Mitarbeiter halten den 45-Minutenwert zur Beurteilung leichterer Leberschäden zu unempfindlich und schlagen deshalb vor, den geringsten Farbstoffnachweis nach 60 Minuten als pathologisch zu betrachten. Diese Empfindlichkeitssteigerung stellt wohl eine Überforderung der Probe dar und führt möglicherweise zur Diagnose von mehr Leberfunktionsstörungen als tatsächlich vorhanden sind. Die Menge des benötigten Plasmas wird verschieden angegeben. Sie liegt zwischen 0,5 und 1,5 ccm. Ebenso schwankt die Schichtdicke der benutzten Cuvetten zwischen 0,5 und 1,0 ccm. Photometriert wird bei Filter S₅₇ (570 mμ) oder bei 597 mμ, je nach der Art des Photometers. Zur Nullbestimmung des Gerätes wird zunächst die angesäuerte Serumverdünnung in den Lichtweg gebracht. Die Bromsulphaleinkonzentration wird berechnet aus den gemessenen Extinktionswerten. Die Retention ergibt sich aus der Formel:

$$\text{Retention in \%} = \frac{100 (k_3 - k_1)}{k_2 - k_1}$$

wobei k_1 = Extinktionswert des Leerwertes (Nüchternserum)

k_2 = Extinktionswert der 3 Minutenprobe

k_3 = Extinktionswert der 45 Minutenprobe

Eine Vereinfachung der photometrischen Methode besteht darin, dass man lediglich den Retentionswert nach 45 Minuten bestimmt, ohne die maximale Farbstoffkonzentration nach der Injektion in Betracht zu ziehen. Die Retention kann aus Eichkurven ermittelt werden, wobei eine Serumkonzentration von 10 mg% als 100%ig definiert ist.

Von HOFMANN und OETEL wurde noch eine Mikromethode angegeben. Sie wird, wie schon der Name sagt, mit sehr kleinen Blutmengen durchgeführt. Vor der Injektion der üblichen Farbstoffdosis erfolgt Blutentnahme zum Leerwert. Bei den nachfolgenden Entnahmen bei 3 und 30 Minuten zieht man am Ohrläppchen mit einer Blutzuckerpipette je 0,2 ccm Blut auf und gibt sie in 0,9 ccm isotonischen Zitratpuffer (pH 6,5). Die 3-Minutenprobe wird als 100% Wert angesehen.

2. Die Ermittlung der feststehenden Eliminationsgrößen

a) Als wichtigste Methode ist hier die Bromsulphalein-Clearance zu nennen. Unter Clearance versteht man das Plasmavolumen, das in der Minute von einer bestimmten Substanz gereinigt wird. Die Bromsulphalein-Clearance stellt eine Verfeinerung der für die klinischen Zwecke voll ausreichenden Bestimmung der 45 Minuten Retention dar. Sie wurde von GOODMAN und KINGSLEY eingeführt und von NEUMAYR und Mitarbeitern weiter ausgearbeitet.

Nach Entnahme des Leerwertes und Injektion der üblichen Testdosis des Farbstoffes, werden durch dieselbe liegende Kanüle alle 5 Minuten Blutproben entnommen bis zum Ende der 20. Minute und dann nochmals nach weiteren 10 bzw. 25 Minuten, wobei man das zwischen der Injektion und den nachfolgenden Entnahmen bei aufgehobener Stauung abtropfende Blut verwirft. Die Farbstoffkonzentration im Serum wird photometrisch bestimmt und semilogarithmisch zur Zeit in Beziehung gesetzt. Hieraus lässt sich die Clearance bestimmen.

Der normale Clearance-Wert liegt bei 5,33 ml/Min./kg Körpergewicht. Das heisst, bei einem 70 kg schweren Menschen würden 350 ml Plasma/Min. von Bromsulphalein befreit werden. Bei einem normalen Menschen durchströmen rund 700 ml Plasma pro Minute die Leber. Beim Gesunden liegt kein Clearance-Wert unter 4 ml/Min./kg Körpergewicht. Demnach betrachten die Autoren einen Wert von über 4 ml als physiologisch, einen solchen von unter 3 ml als pathologisch, da beim Leberkranken kein Clearance-Wert über 3 ml lag.

b) Von BRADLEY und anderen wird die Eliminationsgeschwindigkeit nach der prozentualen Eliminationsrate (PER) berechnet. Die PER ist die in Prozent angegebene Verringerung der Bromsulphaleinkonzentration pro Minute. Die Autoren geben einen Normbereich von 10-16% an.

c) Eine weitere feste Grösse ist die Eliminationskonstante (EK). Sie ist das Gefälle der exponentialen Elimination, daher ein direktes Mass für die Leberleistung. Grössenmässig entspricht die EK dem Clearance-Koeffizienten von LAVERS, der mit einem Mittelwert 0,082 und einem Grenzwert von 0,03 eine grosse Streubreite zeigt.

d) Eine weitere Beurteilung der Elimination ermöglicht die Messung der Zeit (t_{halb}) nach der der Blutspiegel des Farbstoffes auf die Hälfte abgesunken ist.

Vor kurzem wurde von ZIMMER eine Zwei-Farbstoffmethode vorgeschlagen, die es ermöglichen soll, folgende Fehlerquellen auszuschliessen: 1. Bestimmung der aktiven Plasmamenge, die bei Leberparenchymerkrankungen erheblich verändert ist und 2. Ermittlung der Anfangskonzentration des Farbstoffes, die in Folge der schnellen Ausscheidung sonst nicht sicher möglich ist.

Bei der Zwei-Farbstoffmethode wird mit dem Bromsulphalein zugleich ein zweiter Farbstoff (Trypanrot) injiziert, der so langsam eliminiert wird, dass sein Blutspiegel während der Testdauer konstant bleibt. Auf diese Weise lässt sich bei konstanter Bromsulphalein-Dosierung die Anfangskonzentration und auch die aktive Plasmamenge messen. Trypanrot ist ungiftig, stört die Bromsulphalein-elimination nicht und ist vom Bromsulphalein sicher kolorimetrisch zu trennen. Es werden 300 mg Bromsulphalein und 100 mg Trypanrot in 10 ccm isotonischer Lösung injiziert. 10 Minuten nach der Injektion wird am anderen Arm Blut entnommen. Dann erfolgt die Plasmamengenbestimmung durch kolorimetrische Auswertung der Serumprobe gegen einen Leerwert. Die gleiche Serumprobe wird danach in alkalisiertem Zustand gegen das mit Trypanrot gefärbte Plasma zur Bestimmung der Bromsulphaleinelimination kolorimetriert. Durch Eichkurven und entsprechende Eliminationstabellen lässt sich unmittelbar das Testergebnis als pathologische Ausscheidungshemmung ablesen.

6) Störungsfaktoren der Bromsulphaleinprobe

Als Fehlerquelle kommt einmal das Verhalten des Farbstoffes im Körper, bzw. die Ausscheidungsweise, zum anderen die Methodik in Frage. Neuerdings wurde der Verdacht geäußert und auch bestätigt, dass exogene Faktoren in Form von bakteriellen Stoffen einen Einfluss auf die Bromsulphaleinprobe im Sinne einer Verfälschung haben.

Schon sehr früh wurde gegen die Probe eingewendet, dass die Exkretion des Farbstoffes durch Gallenstauung behindert werde. Dieser Einwand hat aber keine Bedeutung, insofern als der Test nur bei freier Passage der Gallenwege und damit bei erhaltener Eliminationsmöglichkeit diagnostischen Wert besitzt. Aus diesem Grunde ist die Probe auch nicht für die Differentialdiagnose Verschlussikterus oder Leberparenchymerkrankung geeignet. Die hohe Farbstoffretention beim totalen Choledochusverschluss kommt daher, dass das fast nur gallengängige Bromsulphalein keine Möglichkeit hat, aus der Blutbahn zu gelangen.

Zur Differentialdiagnose intrahepatische Gallensperre bei cholestatischer Hepatitis oder partieller Verschluss eignet sich die sog. duodenale Modifikation der Bromsulphaleinprobe (CAROLI). Dazu wird nach Bromsulphaleininjektion die Zeit bis zum Auftreten einer Rotfärbung der Galle bestimmt. Bei der cholestatischen Hepatitis kann damit nach 10-15 Minuten gerechnet werden, während beim partiellen extrahepatischen Verschluss meist mehr als 30 Minuten verstreichen.

Nur in wenigen Fällen können bei Behinderung der Elimination des Farbstoffes andere Exkretionsmechanismen an die Stelle der Leber treten. So erscheinen gelegentlich bei schweren Leberschäden bis 10% des Farbstoffes im Urin.

Der positive Ausfall der Bromsulphaleinprobe bei Infektionskrankheiten, Polyarthritiden und Herzinsuffizienz ist sicher auf die hohe Empfindlichkeit des Tests in der Erfassung von Leberschäden zurückzuführen. Von einer Reihe von Autoren wird auf eine Störung der Farbstoffausscheidung bei Dysproteinämie hingewiesen. Dabei kommt es zur unvollständigen Bindung des Bromsulphaleins an die Serumalbuminfraktion. Papierelektrophoretische Untersuchungen zeigen das Vorkommen nicht eiweissgebundenen Bromsulphaleins im Serum bei niedrigem Eiweissgehalt. Um die extrahepatische Schnwindrate, besonders bei schwerer Dysproteinämie, die von dem Extraktionsvermögen der Leber und von der Leberdurchblutung abhängt, möglichst klein zu halten, wurden 10 mg Farbstoff/kg Körpergewicht empfohlen.

Bei der Betrachtung der Eliminationskurve fällt ein leichtes Ansteigen während der langsamen Exkretionsphase auf. Diese Beobachtung gab den Anlass zur Annahme eines enterohepatischen Kreislaufs des Bromsulphaleins. Sie konnte aber noch nicht eindeutig bewiesen werden.

Ein weiterer Einwand ist der, dass das Verschwinden des Bromsulphaleins aus dem Blut von der Leberdurchblutung pro Zeiteinheit abhängt, also vom Minutenvolumen. WOLLHEIM konnte zeigen, dass die aktive Blutmenge bei Hepatitis-kranken vermindert ist. Aber auch bei kardialer Stauungsleber ergibt sich eine verminderte Leberdurchblutung und damit eine positive Bromsulphaleinprobe.

Auf der gleichen Ursache beruht die verminderte Bromsulphalein-Ausscheidung bei körperlicher Arbeit; dabei wird die Leberdurchblutung vermindert, während dies bei Kalorienzufuhr (Essen oder Glukoseinjektion) nicht der Fall ist.

Eine Fehlerquelle, die ihre Ursache in der Methodik hat, besteht darin, dass keine Bestimmung des Konzentrationsmaximums durchgeführt wird, sondern der 45-Minuten Retentionswert durch Eichkurven ermittelt wird, wobei eine Serumkonzentration von 10 mg% als 100%ige Retention definiert wird. Die tatsächliche Konzentration weicht jedoch von diesem Wert ab. Bei der üblichen Bromsulphaleindosis von 5 mg/kg Körpergewicht und einer durchschnittlichen Plasmamenge von 44 ccm/kg Körpergewicht beträgt die maximale Plasmakonzentration theoretisch 11,4 mg%. Die meisten Autoren geben einen Wert von über 10 mg% an. Die Annahme einer fixen Maximalkonzentration stellt daher eine gewisse Fehlerquelle dar, da der Farbstoff in einer Menge zugeführt wird, die in Relation zum Körpergewicht und nicht zur Blutmenge steht, die allein die Blutkonzentration beeinflusst.

Ob die Bromsulphaleinprobe durch Medikamente beeinflusst wird konnte bisher nur im Tierversuch eindeutig beantwortet werden. ANDREWS und Mitarbeiter fanden, dass beim Hund die intraarterielle Injektion von 3 Gamma Adrenalin oder 1,8 Gamma Noradrenalin die Bromsulphalein-Eliminierung beträchtlich reduzieren. 20 Gamma Azetylcholin pro Minute hingegen führten zu einer verstärkten Aufnahme der Farbstoffes in die Leber und damit zu einer beschleunigten Exkretion.

Der Verdacht, dass eine positive Bromsulphaleinprobe durch Einverleibung körperfremden Materials entstehen könnte, wurde von HAMRICK und MYERS bestätigt. Sie injizierten einer Reihe lebergesunder Patienten und gesunder Versuchspersonen eine unerschwellige Dosis eines bakteriellen Pyrogens

und zwar das gereinigte Polysaccharid aus *Bac. pyocyaneus* in einer Dosis von 5 Gamma. In keinem Fall trat eine Temperatursteigerung auf. Hingegen fand sich eine Verminderung der Bromsulphaleinausscheidung um durchschnittlich 33% und eine Steigerung der Leberdurchblutung um 47%. Die Bestimmung der Farbstoffretention wurde mit der Clearance-Methode vorgenommen, mit den Werten anderer gesunder Personen verglichen und in Prozent der Norm ausgedrückt. Es wurde also keine Kontrollbestimmung an der gleichen Versuchsperson ohne Pyrogen vorgenommen. HICKS und Mitarbeiter fanden bei Patienten mit spontanem Fieber eine Abweichung der Bromsulphalein-Clearance im Sinne der Retentionserhöhung, die mit Abklingen des Fiebers wieder auf normale Werte zurückging.

C) Eigene Untersuchungen

a. Methodik

Untersucht wurden 2 Gruppen von insgesamt 60 Krankenhauspatienten, sowohl Männer als auch Frauen.

Die eine Gruppe umfasst 20 lebergesunde Personen. Darunter sollen in diesem Zusammenhang Patienten verstanden werden, bei denen keine Angaben über einmal durchgemachte Lebererkrankungen vorlagen und die auch zum Zeitpunkt der Untersuchung keine klinischen Zeichen einer solchen Krankheit boten. Die Serumlabilitätsteste der Versuchspersonen dieser Gruppe lagen, soweit sie im Rahmen der klinischen Untersuchungen durchgeführt worden waren, im Bereich der Norm.

Zu der zweiten Gruppe zählten Personen mit verschiedenen Lebererkrankungen wie Hepatitis epidemica, chronische Hepatitis, Lebercirrhose, metastatischem Lebercarcinom und Cholangitis mit Leberbeteiligung.

In jedem Falle wurde zunächst eine Bromsulphaleinprobe mit Bromthalein der Firma Merck durchgeführt, um einen Vergleichswert zu erhalten. Danach wurde innerhalb 24, in einigen Fällen umständehalber erst 48 Stunden eine zweite Bromsulphaleinprobe nach vorausgegangener Pyriferinjektion vorgenommen. In beiden Gruppen erfolgte die eigentlich Versuchsprobe 2 Stunden nach der Pyriferinjektion (i.v.). Die Pyriferdosierung begann mit 5 Einheiten und stieg bis auf 50 Einheiten.

Die Zeitspanne von 2 Stunden wurde deshalb gewählt, weil sie etwa den Versuchsbedingungen von HAMRICK und MYERS entspricht und weil bei den eigenen Untersuchungen besonders der Zeitraum der anlaufenden Fieberreaktion interessierte. Die Körpertemperaturen der untersuchten Personen waren deshalb bei der Bromsulphaleinprobe nach Pyrifer z.T. subfebril, z.T. mittelgradig erhöht, nur wenige hatten deutliches Fieber. Bei einer Reihe von Patienten blieb jegliche Temperaturerhöhung aus, bei anderen stellte sich erst nach Stunden Schüttelfrost und Fieber bis zu 40,1 Grad ein.

Eine halbe Stunde vor der Pyriferinjektion und 2 Stunden später wurde die axillare Temperatur bestimmt und der Puls gemessen. Die Ermittlung der Bromsulphaleinretention erfolgte nach der an der Mainzer Medizinischen Klinik gebräuchlichen Methode. Aus der Armvene des nüchternen, liegenden Patienten wird eine Blutprobe entnommen (Leerwert) und anschliessend 5 mg Bromsulphalein/kg Körpergewicht schnell injiziert. Nach 45 Minuten wird am anderen Arm erneut zum Kontrollwert entnommen. Die Blutprobe lässt man spontan gerinnen und zentrifugiert dann 5 Minuten scharf bei 3500 Umdrehungen/Minute. Vom überstehenden Serum wird je 1 ccm vorsichtig abpipetiert und mit 5 ccm physiologischer Kochsalzlösung versetzt. Zum 45-Minuten-Serum gibt man ausserdem noch 0,1 ccm 10%ige Natronlauge. Die Auswertung beider Proben wird mit einem Zeiss-Opton Elektrokolorimeter (Elko II) bei einer Schichtdicke von 0,5 cm und Filter S 57 E vorgenommen.

Zunächst wird das Gerät auf Null eingestellt, das Filter eingesetzt und die 45 Minuten Serumprobe in den Strahlengang eingebracht. Der Zeigerausschlag

am Galvanometer wird bis auf Null abgeglichen. Die Behandlung der Leerprobe geschieht danach in der gleichen Weise. Der Retentionswert läßt sich aus einer Eichkurve direkt unter dem auf der Trommel eingestellten Extinktionswert ablesen.

Die wiederholten Farbstoffinjektionen wurden von den Patienten bis auf eine Ausnahme gut vertragen. In diesem Falle traten bei einer 63jährigen Patientin 5 Minuten nach der Injektion der Normaldosis Bromthalein schlechter Geschmack im Mund, Übelkeit. Brechreiz und Urticaria am ganzen Körper auf. Es kann allerdings nicht gesagt werden, ob diese Erscheinungen auf das Bromsulphalein zurückzuführen sind, da ähnliche Zeichen gelegentlich auch bei der Injektion anderer Substanzen aufgetreten sein sollen. Der Versuch wurde daraufhin abgebrochen. In allen anderen Fällen wurden keine derartigen Erscheinungen beobachtet, auch keine öfters beschriebene örtliche Thrombophlebitiden.

Pyrifer wurde bis zu 15 Einheiten ohne irgendwelche Anzeichen einer Fieberreaktion vertragen. Puls und Temperatur änderten sich nicht oder nur innerhalb normaler Schwankungsbreite. Erst bei 25 und 50 Einheiten Pyrifer traten deutliche Puls- und Temperaturerhöhung auf und gelegentlich Kältegefühl und vorübergehende leichte Kopfschmerzen.

Bei den einzelnen Versuchsgruppen wird für die Retentionswerte vor und nach Pyriferinjektion der Mittelwert der Differenzen $\bar{d}$ angegeben, weiterhin die mittlere quadratische Abweichung s und der mittlere Fehler des Mittelwertes $s_{\bar{d}}$. s entspricht Sigma und ergibt sich aus der Formel:

$$s = \frac{(x_1 - M)^2 + (x_2 - M)^2 + \dots + (x_n - M)^2}{n - 1} \quad (x_n = d_n)$$

$$s_{\bar{d}} = \frac{s}{n}$$

b. Ergebnisse

1. Gruppe:

a) 5 lebergesunde Patienten. Injektion von 5 Einheiten Pyrifer, Versuch 24 Stunden nach Kontroll- Bromsulphaleinprobe.

Patient	Alter	Kontroll- Bromsulpha- leinprobe %	Bromsulpha- leinprobe mit Pyrifer	Temperatur		Diagnose
				vor	nach	
C.L.	43	1	0,5	37,2	37,1	chron. Tonsillitis
H.G.	53	3	3	36,2	36,5	Ulcus ventriculi
E.I.	23	1	1,5	37,0	37,1	gesunde Versuchsperson
F.H.	49	1,5	1,5	37,0	36,9	Thrombophlebi- tis
F.Sch.	52	1,5	2,5	37,4	37,2	Polyneuritis

$$\bar{d} = 0,2$$

$$s = 0,81$$

$$s_{\bar{d}} = 0,36$$

b) 5 lebergesunde Patienten. Injektion von 15 Einheiten Pyrifer, Versuch 24 Stunden nach Kontroll-Bromsulphaleinprobe, bei Patient F.B. nach 48 Stunden

Patient	Alter	Kontroll- Bromsulpha- leinprobe %	Bromsulpha- leinprobe mit Pyrifer	Temperatur		Diagnose
				vor	nach	
K.N.	48	3,5	3,0	36,2	36,8	Verd.a. Bronchial-Ca.
F.B.	32	3,0	3,0	36,5	36,3	Asthma bronchiale
M.H.	19	1,0	2,0	37,0	37,6	Pleuritis exsudat.
M.W.	40	5,0	4,0	37,2	37,4	Ulcus ventriculi
G.K.	28	4,0	2,5	37,5	37,4	Colitis

$$\bar{d} = -0,4$$

$$s = 1,07$$

$$s_{\bar{d}} = 0,48$$

c) 10 lebergesunde Patienten. Injektion von 50 Einheiten Pyrifer
(1 ccm Stärke I), Versuch 24 Stunden nach Kontroll-Bromsulphalein-
probe.

Patient	Alter	Kontroll- Bromsulpha- leinprobe %	Bromsulpha- leinprobe mit Pyrifer	Temperatur		Diagnose
				vor	nach	
M.S.	34	1,0	0	36,8	37,0	sek.chron. Polyarthrit.
G.B.	34	3,5	4,0	36,9	38,6	Gastritis
L.D.	48	5,0	6,5	37,3	38,6	Magencarcinom
T.N.	44	0	2,0	36,6	39,0	Diabetes mellitus
J.W.	52	2,0	3,5	37,5	38,1	Hypernephrom
Sch.H.	32	4,0	5,0	36,8	37,9	Lungen- tuberculose
H.R.	39	0	0	36,6	37,5	nervöse Herzbeschwerden
Ö.A.	56	2,0	1,5	36,2	38,1	Cystopyelitis
B.C.	50	2,0	3,5	36,4	37,5	ak. Polyarthrititis
D.K.	62	6,0	6,0	36,0	36,8	Trombophlebi- tis

$$\bar{d} = 0,65$$

$$s = 1,0$$

$$s_{\bar{d}} = 0,32$$

2. Gruppe

- a) 5 leberkranke Patienten. Injektion von 15 Einheiten Pyrifer, Versuch 24 Stunden nach Kontroll-Bromsulphaleinprobe, bei Patient M.J. nach 48 Stunden

Patient	Alter	Kontroll-Bromsulphaleinprobe %	Bromsulphaleinprobe mit Pyrifer	Temperatur		Diagnose
				vor	nach	
E.L.	57	20,0	18,0	37,1	37,4	Cholangiolitis
M.J.	50	11,5	5,5	37,2	36,8	M. Boeck mit Leberbeteiligung
J.K.	29	61,0	63,0	37,4	37,4	Hepatitis epid.
R.B.	32	25,0	24,5	36,6	36,8	carcinomatöse Lebermetastasen
L.D.	47	9,0	11,0	36,7	36,9	Cholangitis

$$\begin{aligned}\bar{d} &= 0,9 \\ s &= 3,32 \\ s_{\bar{d}} &= 1,48\end{aligned}$$

- b) 5 leberkranke Patienten. Injektion von 25 Einheiten Pyrifer, Versuch 24 Stunden nach Kontroll-Bromsulphaleinprobe.

Patient	Alter	Kontroll-Bromsulphaleinprobe %	Bromsulphaleinprobe mit Pyrifer	Temperatur		Diagnose
				vor	nach	
H.W.	64	7,5	9,5	36,4	37,5	Cholangitis
S.Sch.	58	21,5	23,0	36,8	37,7	Hypernephrom Lebermetastasen
F.K.	32	24,0	27,0	37,0	37,6	Hepatitis epid.
M.F.	38	8,0	7,0	37,1	37,9	Hepatitis epid.
H.S.	44	14,0	15,5	36,7	36,9	carcinomatöse Lebermetastasen

$$\begin{aligned}\bar{d} &= 1,4 \\ s &= 1,47 \\ s_{\bar{d}} &= 0,66\end{aligned}$$

c) 5 leberkranke Patienten. Injektion von 50 Einheiten Pyrifer. Versuch
24 Stunden nach Kontroll-Bromsulphaleinprobe.

Patient	Alter	Kontroll- Bromsulpha- leinprobe %	Bromsulpha- leinprobe mit Pyrifer	Temperatur		Diagnose
				vor	nach	
A.H.	43	22,0	23,5	36,9	37,9	Hepatitis epid.
H.Sch.	29	12,0	12,5	37,3	38,9	Cholangiolitis
J.K.	29	43,0	42,0	37,2	38,4	Hepatitis epid.
S.Sch.	58	28,0	29,5	37,2	37,8	Hypernephrom- Lebermetastasen
A.Sch.	29	13,5	29,0	37,7	38,2	Lebercirrhose

$$\begin{aligned}\bar{d} &= 3,6 \\ s &= 6,3 \\ s_{\bar{d}} &= 2,81\end{aligned}$$

d) 15 Patienten mit Lebercirrhose. Injektion von 50 Einheiten Pyrifer,
Versuch 24 Stunden nach Kontroll-Bromsulphaleinprobe.

Patient	Alter	Kontroll- Bromsulpha- leinprobe %	Bromsulpha- leinprobe mit Pyrifer	Temperatur	
				vor	nach
A.R.	57	24,0	26,0	37,2	38,3
J.S.	36	18,0	20,0	36,5	37,7
K.R.	55	35,0	39,0	36,7	38,5
C.J.	49	42,0	45,0	36,9	38,9
J.E.	29	61,0	70,0	37,0	39,1
A.Sch.	39	15,0	19,5	37,0	37,3
W.Sch.	61	52,0	58,0	37,0	37,9
M.G.	45	12,0	12,0	36,5	39,0
R.G.	64	28,0	37,0	37,2	38,4
G.U.	58	16,0	19,0	37,1	38,6
W.L.	37	36,0	41,0	36,9	38,0
F.Sch.	59	60,0	63,0	36,8	38,2
M.F.	38	30,0	54,0	36,5	38,0
A.Sch.	29	13,5	29,0	37,7	38,2

$$\bar{d} = 6,46$$

$$s = 6,15$$

$$s_{\bar{d}} = 1,58$$

e) 10 Patienten mit chron. Hepatitis. Injektion von 50 Einheiten Pyrifer, Versuch 24 Stunden nach Kontroll-Bromsulphaleinprobe.

Patient	Alter	Kontroll- Bromsulpha- leinprobe %	Bromsulpha- leinprobe mit Pyrifer	Temperatur	
				vor	nach
G.B.	61	25,0	25,0	37,1	37,3
A.R.	47	6,5	7,0	37,1	37,0
W.H.	60	16,0	16,5	36,8	37,0
A.K.	47	8,0	8,0	36,9	37,4
F.K.	45	3,0	3,0	36,6	36,8
H.B.	20	∅	∅	36,8	37,0
J.V.	54	17,5	18,0	36,9	37,4
B.G.	61	24,0	25,0	36,9	37,4
A.R.	54	8,0	9,0	36,9	37,6
F.B.	39	26,0	26,0	37,2	38,1

$$\bar{d} = 0,25$$

$$s = 0,43$$

$$s_{\bar{d}} = 0,14$$

Der Quotient $\frac{\bar{d}}{s_{\bar{d}}}$ muss bei 5 Beobachtungen unter gleichen Bedingungen grösser sein als 6,6 und bei einer Reihe von 15 Beobachtungen grösser als 3,6. Demzufolge kann auf Grund der angeführten Tabellen gesagt werden, dass bei lebergesunden Patienten eine Pyriferzufuhr bis zu 50 Einheiten keine statistisch gesicherte Zunahme des Retentionsindex hervorruft. Bei leberkranken Versuchspersonen mit verschiedenartigen Krankheitsbildern wie Hepatitis epidemica, Cholangitis, Cholangiolitis und Metastasenleber, lässt sich bei einer Dosierung bis 50 Einheiten Pyrifer ebenfalls keine Retentionserhöhung nachweisen. Dagegen zeigten die Patienten mit einer Lebercirrhose, die die gleiche Pyriferdosis injiziert erhielten, eine deutlich sichtbare Erhöhung des Retentionsindex, die auch statistisch gesichert werden konnte.

c. Diskussion der Ergebnisse

In der Gruppe der lebergesunden Patienten wurden jeweils 5 Versuchspersonen nach Injektion von 5,15 und 50 Einheiten Pyrifer untersucht. Weder die subfebrilen noch die fiebererzeugenden Dosen bewirkten eine statistisch gesi-

cherte Erhöhung der Bromsulphaleinretention. Auf Grund dieser Ergebnisse läßt sich daher sagen, dass eine Verfälschung des Tests im Sinne einer zu starken Retention durch parenteral zugeführtes pyrogenes Material nicht in Frage kommt oder doch zumindest unwahrscheinlich ist.

Diese Ansicht widerspricht den Untersuchungen von HAMRICK und MYERS und denen von HICKS und Mitarbeitern. Während HAMRICK und MYERS bei lebergesunden Versuchspersonen nach Injektion von 5 Gamma eines gereinigten Polysaccharids aus *Bac. pyocyaneus* eine durchschnittliche Erhöhung der Farbstoffretention fanden, beobachteten HICKS und Mitarbeiter ebenfalls bei Lebergesunden mit spontanem Fieber eine deutliche Erhöhung. Die Menge des von HAMRICK und MYERS verwendeten Pyrogens entspricht etwa 10 - 15 Einheiten Pyrifer. In dieser Hinsicht sind die Beobachtungsbedingungen etwa gleich. Nicht übereinstimmend dagegen sind die Messmethoden, da die amerikanischen Autoren die Bromsulphalein-Clearance anwendeten. Die Frage, ob das Ausbleiben einer Änderung des Exkretionsvermögens der Leber auf einer tatsächlichen Verschiedenheit der Untersuchungsergebnisse beruht oder durch die jeweils angewandte Messmethode bedingt ist, muß offengelassen werden.

In der Gruppe der Leberkranken - es handelt sich dabei um Hepatitis epidemica, Cholangitis, Cholangiolitis und Metastasenleber - konnte bei einer Pyriferdosierung von 15 und 25 Einheiten keine statistisch gesicherte Retentionserhöhung festgestellt werden. Nach der Injektion von 50 Einheiten zeigte sich bei 5 Patienten mit Hepatitis epidemica, Cholangiolitis, Metastasenleber und Lebercirrhose eine im Einzelfall zum Teil recht erhebliche Verschlechterung der Bromsulphaleinexkretion, die besonders bei einem Fall von Lebercirrhose auffallend war. Zusammengefaßt liess sich jedoch für diese 5 leberkranken Versuchspersonen keine statistische Sicherung für die Retentionserhöhung erbringen, ebensowenig wie bei 10 Untersuchten mit chronischer Hepatitis.

Auf Grund der augenfälligen Farbstoffretention in einem Falle von Lebercirrhose wurden 15 Patienten mit dem gleichen Krankheitsbild untersucht. Die Injektion von 50 Einheiten Pyrifer bewirkt eine Erhöhung der Farbstoffretention, die eindeutig gesichert werden konnte. Diese Beobachtung deckt sich mit den Angaben von HICKS und Mitarbeitern. Für Fälle von schweren Leberparenchymerkrankungen lässt sich demnach sagen, dass künstliches Fieber das Extraktionsvermögen der Leberzellen herabsetzt. Bemerkenswert ist, dass die stärksten Veränderungen des Retentionswertes nicht bei den Patienten mit der deutlichsten Temperatursteigerung auftraten, sondern von dem Kontroll-Retentionswert abhingen. Das heisst, je höher der Kontroll-Retentionswert, desto ausgesprochener war die Exkretionshemmung.

Es ist wahrscheinlich, dass bei künstlichem Fieber die verminderte Funktionsfähigkeit der Leberparenchymzellen für die Änderung der Elimination verantwortlich ist, und zwar um so mehr, je hochgradiger die Funktionsstörung ausgebildet ist. In diesem Sinne sprechen mehrfach beobachtete histologische Veränderungen der Leber nach extremer Hyperpyrexie. Es kann angenommen werden, dass das künstliche Fieber ähnliche, aber weniger ausgeprägte Veränderungen bewirkt, die zu einer Veränderung der Bromsulphaleinretentionswerte führen,

und dass die verminderte Exkretionsleistung der Leber schon in der subfebrilen Phase manifest wird.

Abschliessend kann gesagt werden, dass die Injektion von subfebrilen Pyrogen-dosen bei lebergesunden und leberkranken Personen auf Grund der durchgeführten Untersuchungen keinen Einfluss auf die Farbstoffelimination hat. Fieber-erzeugende Dosen haben bei Lebergesunden keinen Einfluss auf die Exkretion, dagegen aber bei Patienten mit schweren Leberparenchymerkrankungen. Allerdings sind diese Dosen so gross, dass sie als zusätzliches Agens bei der Injektion von Medikamenten nicht in Frage kommen. Immerhin ergibt sich die Notwendigkeit, bei der Beurteilung der Bromsulphaleinprobe leberkranker Patienten die Körpertemperatur zu berücksichtigen.

D) Zusammenfassung

In der vorliegenden Arbeit wird der Einfluss von Pyrifer in steigenden, subfebrilen und febrilen Dosen auf die Bromsulphalein-Leberfunktionsprobe an einem Krankengut von 60 lebergesunden und leberkranken Patienten untersucht. Bestimmt wurde die 45-Minuten Retention des Farbstoffes, zwei Stunden nach vorausgegangener Pyriferinjektion.

Die Ergebnisse sind folgende:

Lebergesunde Versuchspersonen zeigten keine statistisch gesicherte Erhöhung der 45-Minuten Retention, weder nach subfebrilen noch nach fiebererzeugenden Pyriferdosen.

Leberkranken, die bis 15 Einheiten Pyrifer erhielten, liessen keine Veränderung der Farbstoffelimination erkennen. Bei 50 Einheiten konnte im Einzelfall zwar eine Retentionserhöhung beobachtet werden, die sich bei leichteren Leberparenchymerkrankungen jedoch nicht eindeutig sichern liess.

Dagegen zeigten schwere Parenchymveränderungen wie Lebercirrhosen bei fiebererzeugenden Pyriferdosen eindeutig erhöhte Retentionswerte. Diese Erhöhung der Retentionsquote des Farbstoffes nach 45 Minuten konnte statistisch gesichert werden. Die Temperaturerhöhung war für die verzögerte Farbstoffelimination weniger wichtig als die 45-Minuten Retention vor Versuchsbeginn.

E) Literaturverzeichnis

- 1) Alliot, M. und Paraf, A.: L'exploration fonctionnelle du foie par l'épreuve de la Bromsulphonephtaléine (BSP) Son Intérêt en Clinique. Presse Médicale, 59, 25:501, 1951
- 2) Andrews, Horner, W.H., Maeagraith, B.G. und Richards, T.G.: The effect upon bromsulphalein extraction of the rate and distribution of blood flow in the perfused canine liver. J. Physiol., 131:669, 1956.
- 3) Beckmann, K.: Handbuch der Inneren Medizin, Bd. III/2, S. 676, Springer Berlin 1955.
- 4) Beyreder, J. und Rettenbacher-Däubner, H.: Zur Methodik und klinischen Auswertung des Bromsulphaleintestes. Wien. med. Wschr., 106, 34:722, 1956.
- 5) Bjorneboe, M.: Letal verlaufende Reaktion nach Bromsulphaleinprobe. Ugeskr.Laeg., 447, 1956. Zitiert in: Zbl. ges. inn. Med., 3:302, 1956.
- 6) Bradley, S.E., Chasis, H., Goldring, W. und Smith, H.: Haemodynamic Alterations in Normotensive and Hypertensive Subjects During the Pyrogenic Reaction. J. Clin. Invest., 24:749, 1954.
- 7) Cantarow, A. und Wirts, C.W.: Excretion of bromsulphalein in the bile. Proc. Soc. Exper. Biol. and Med., 47:242, 1941.
- 8) Caroli, J.: So-called intoxication by bromsulphonphthalein. Ann. Biol. Clin., 13, 5-6:312, 1955. Zitiert in: Excerpta Medica (Internal Medicine), 10, 6:301, 1956.
- 9) Cohen, E.S., Althausen, Th.L. und Giansiracusa, J.E.: Studies on Bromsulphalein Excretion. Gastroenterology, 30:232, 1956.
- 10) Dietel, V.: Die Leberfunktionsprüfung mit Bromthalein beim Säugling. Ärztl. Wschr., 11:206, 1956.
- 11) Frey, E.: Der Bromsulphaleintest und seine Bedeutung als Leberfunktionsprobe. Dtsch. med. Wschr., 8:1622, 1953.
- 12) Gattner, H.: Die Wirkung eines Fieberstosses bei der chronischen Form der Hepatitis epidemica. Med. Klin., 8:246, 1949.
- 13) Goodman, R.D. und Kingsley, G.R.: Bromsulphalein-Clearance Test. J. Amer. Med. Ass., 153:462, 1953.
- 14) Hamrick, L.W. und Myers, J.D.: The effect of the subfebrile doses of bacterial pyrogens on splanchnic metabolism and cardiac output. J. Laborat. Clin. Med., 45:568, 1955.
- 15) Herken, H. und Stapenhorst, K.: Die Bromsulphaleinprobe. Ihre Vorzüge und ihre Begrenzung. Dtsch. Arch. klin. Med., 202:52, 1955.
- 16) Hicks, M.H., Holt, H.P., Guerrant, J.L. und Leavell, B.S.: The Effect of Spontaneous And Artificially Induced Fever On Liver Function. J. Clin. Invest., 27, 5:580, 1958.

- 17) Höfer, R., Neumayer, A., Parzer, O. und Vetter, H.: Bromsulphalein-Clearance und Durchblutung der cirrhotischen Leber während einer Totalextraktbehandlung. Wien. Zschr. inn. Med., 36:237, 1955.
- 18) Hofmann, H.Th. und Oettel, H.: Die Leberfunktionsprüfung mit dem Bromsulphaleintest als einfache Mikromethode. Ärztl. Wschr., 41:965, 1954.
- 19) Klütz, E. und Wildhirt, E.: Der Wert der Bromsulphaleinprobe in der Leberdiagnostik. Med. Klin., 34:1322, 1954.
- 20) Kuntz, E.: Zur Frage der Beeinflussbarkeit der Bromsulphophthaleinprobe durch die Serumeiweissfraktionen. Klin. Wschr. 1957, 14:722.
- 21) Lorber, St.H. und Shay, H.: Enterohepatic Circulation of Bromsulphalein. Gastroenterology, 20:262, 1952.
- 22) Labo, G. und Lenzi, W.: Su di alcuni nuovi metodi di esplorazione delle vie biliari: la cromocoloscopia con bromsulphaleina e con jodio ed il sondaggio colecistografico --jodometrico, Minerva med., 1:1056, 1956.
- 23) Mateer, J.G., Baltz, J.I., Marion, D.F. und MacMillan, J.M.: Liver function tests. J. amer. Med. Ass., 121:723, 1948.
- 24) Mateer, J.G. Baltz, J.I., Commanduras, P.D., Steele, H.H. und Brouwer, S.W.: Further advances in liver function tests. Gastroenterology, 8:52, 1947.
- 25) Mendeloff, A.I., Kramer, Ph., Ingelfinger, F.J. und Bradley, S.E.: Studies with Bromsulphalein II. Gastroenterology, 13:223, 1949.
- 26) Metzler, Ch., Hoffbauer, F.W.: The corrected bromsulphalein test. A comparison with the cephalin-cholesterol flocculation test and the thymol turbidity reaction in jaundice patients. J. Laborat. Clin. Med., 47:499, 1956.
- 27) Neumayr, A., Parzer, O. und Vetter, H.: Zur Problematik der Bromsulphalein-Clearance als Leberfunktionsprüfung. Dtsch. med. Wschr., 26:1039, 1954.
- 28) Ney, H.R.: Der Bromthaleintest im peripheren und im Lebervenenblut. Klin. Wschr. 4:126, 1957.
- 29) Pantlen, H. und Ruppel, W.: Der Bromsulphalein-Test in der Leberfunktionsdiagnostik. Münch. med. Wschr., 24:706, 1954.
- 30) Parr, F. und Schmitt, W.: Über die Beeinflussung der Bromthaleinkonzentration im Plasma durch akute Veränderungen der Kreislaufgrößen. Zschr. klin. Med. 154, 4:395, 1957.
- 31) Ricketts, W.E.: Pathological liver with minimal or no change in "liver tests". J. Amer. Med. Sc. 221:287, 1951.
- 32) Rieger, J.: Untersuchungen und kritische Stellungnahme zur Technik und klinischen Brauchbarkeit des Bromsulphaleintests. Berl. Med., 10:219, 1956.

- 33) Rosenthal, S.M. und White, E.C.: Clinical application of the Bromsulphalein test for hepatic function. J. Amer. Med.Ass., 84:1112, 1925.
- 34) Schaefer, H.: Leberfunktionsprüfungen. Wissenschaftl. Verlagsgesellschaft M.B.H. S. 51, Stuttgart, 1951.
- 35) Schragel, F.: Klinische Erfahrungen über den Wert der Bromsulphaleinprobe für die Differentialdiagnose, Verlauf und Prognose von Lebererkrankungen. Wien. Med. Wschr. 106, (44), 28:96, 1956.
- 36) Schrumpf, C.A.: Present fundamentals of some liver function tests. Am. J. Digest. Dis., 15:367, 1948.
- 37) Seydl, G. und Grimme, E.: Eine neue Methode zur Leberfunktionsprüfung mit Bromsulphalein. Klin. Wschr., 33/34: 579, 1951.
- 38) Spies, R. und Trauer, W.: Kritisches zum Bromsulphaleintest. Wien. klin. Wschr., 10:174, 1956.
- 39) Taleisnik, S.: Liver mass determination by bromsulphalein in partially hepatectomized rabbits. Gastroenterology, 29:64, 1955.
- 40) Volkheimer, G. und Brüscke, G.: Über eine einfache Methode zur Prüfung der Durchgängigkeit des Ductus choledochus. Zschr. inn. Med., 16:433, 1957.
- 41) Wachsmuth, R.: Der Bromsulphaleintest als Leberfunktionsprobe für Krankenhaus und Praxis. Med. Mschr., 4:296, 1955.
- 42) Wauer, D.: Zur Pyrifetherapie akuter und chronischer Leberparenchymschäden. Dtsch. Gesd. wes., 16:489, 1950
- 43) Wirts, C.W. und Bradford, B.K.: The Biliary Excretion Of Bromsulphalein As A Test Of Liver Function In A Group Of Patients Following Hepatitis Or Serum Jaundice. J. Clin. Invest., 27, 5:600, 1948.
- 44) Wirts, C.W. The clinical and laboratory use of bromsulphalein. Rev. Gastroenterol., 16:125, 1949.
- 45) Zieve, L., Hanson, M und Hill, E.: Studies of liver function tests. II. Derivation of a correction allowing use of the bromsulphalein test in jaundiced patients. J. Labor. Clin. Med., 37:40, 1951.
- 46) Zimmer, V.: Bromsulphalein-Leberfunktionstest. Ärztl. Forschung 10:68, 1956.

Lebenslauf

Am 15.1.1933 wurde ich als ältester Sohn des Oberforstmeisters Dr. Richard Immel und seiner Ehefrau Annagrete geb. Körner in Mainz geboren. Im Anschluß an eine vierjährige Vorbildung in der Grundschule zu Berlin besuchte ich die Oberrealschule in Oppenheim und das naturwissenschaftliche Gymnasium am Kurfürstlichen Schloss in Mainz, an dem ich 1952 das Abitur bestand.

Im Sommersemester 1952 schrieb ich mich an der Johannes-Gutenberg-Universität in Mainz für das erste medizinische Semester ein und konnte dort im Herbst 1954 die ärztliche Vorprüfung und im November 1957 das medizinische Staatsexamen ablegen. Seit dem 1. Dezember 1957 bin ich als Medizinalassistent an der Medizinischen Klinik Mainz tätig.

